Arnaldoa 22 (2): 413 - 426, 2015
ISSN: 1815-8242 (edición impresa)
ISSN: 2413-3299 (online edition)

Punto de Marchitez Permanente, tolerancia y respuesta metabólica al déficit hídrico en cultivares del germoplasma peruano de "quinua" *Chenopodium quinoa* Willd. (Amaranthaceae)

Permanent Wilting Point, Tolerance and Metabolic Response to Water Deficit in Cultivars of Peruvian Germplasm of "quinoa" *Chenopodium quinoa* Willd. (Amaranthaceae)

Ysabel Díaz Valencia, Claudia Arévalo Nieto & Luis Martínez Manchego
Departamento Académico de Biología;
Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa
Herbert Lazo Rodríguez
Departamento Académico de Biología, Laboratorio de Fisiología y Biotecnología Vegetal; Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa
e-mail:holazor@hotmail.com

Recibido: 01 - 10 - 2015, aceptado 10 - 11 -2015; publicado diciembre 2015

Resumen

Se evaluó el grado de resistencia al estrés hídrico en cultivares de *Chenopodium quinoa* Willd. "quinua", determinando el Punto de Marchitez Permanente (PMP) y la tolerancia al déficit hídrico (DHL_{50}). Se seleccionaron cultivares con alto y bajo PMP y tolerantes al déficit hídrico (DHL_{50}) utilizando PEG (PM 8000). La respuesta fisiológica al déficit hídrico se estudió en cultivares seleccionados de respuesta contrastante Blanca de Juli (resistente) y Kamire (sensible), determinando los cambios en la concentración de solutos compatibles (carbohidratos, prolina y betaina) y proteínas solubles. Se utilizaron plantas de tres meses de edad (estado fenológico de 8 hojas verdaderas), las que fueron obtenidas a partir de semillas sembradas en macetas. Los cultivares de "quinua" fueron expuestas a déficit hídrico por aproximadamente 6 días hasta alcanzar el PMP, la determinación del PMP agrupó los cultivares de "quinua" en sensibles, intermedios y resistentes, observándose diferencias significativas ($p<0.05$) entre ellos. La determinación de la tolerancia al déficit hídrico (DHL_{50}), se realizó en cultivares seleccionados por el PMP (sensibles y resistentes). La determinación del DHL_{50} se calculó al tratar discos de hojas a gradientes de concentración de PEG, evaluándose el daño celular por conductivimetría. La mayor tolerancia al déficit hídrico la alcanzó el cultivar Blanca de Juli, y la menor tolerancia el cultivar Kamire, estudiándose en éstos cultivares de resistencia contrastante la respuesta fisiológica. La concentración de carbohidratos, betaína, y proteína soluble aumentaron significativamente ($p<0.05$) en el cultivar resistente al déficit hídrico. La concentración de prolina aumentó en el cultivar resistente Blanca de Juli y disminuyó en el sensible Kamire, no obstante estos cambios no fueron significativos. Estas respuestas indicarían variados mecanismos de resistencia al déficit hídrico en los cultivares de "quinua" estudiados.

Palabras clave: "Quinua", déficit hídrico, estrés hídrico, DHL_{50}, PEG.

Abstract

It was evaluated the tolerance to hydric stress in 14 cultivars of *Chenopodium quinoa* Willd. "quinua", by determination of Permanent Whithered State and desiccation tolerance (DHL_{50}). Also, it was determinate the correlation between the response to hydric deficit with the changes in the concentration of compatible solutes (carbohydrates, betaine, proline) and soluble proteins. Plants of three months old with 8 true leaves were exposed to hydric deficit by 6 days. The evaluation of cell damage allowed to select the 14 cultivars in resistant, tender and with response between both, showing significant differences ($p<0.05$). Two cultivars were selected by its response to hydric deficit, Blanca de Juli (resistant) and Kamire (tender) by determination of DHL_{50} after of treatment with solutions of PEG (8000) at different concentrations in contrast to control without PEG. From this plants were obtained slides of leaves, and these slides were exposed to different concentrations of PEG to finally to evaluate the cell damage by release of electrolytes. The cultivar Blanca de Juli had shown the major level of tolerance and Kamire the minor level. The concentrations of carbohydrates, betaine and soluble proteins were incremented significatively ($p<0.05$) in the resistant cultivar. Proline was incremented in Blanca de Juli, but decreased in Kamire (tender), but this change not was significative.

Keywords: "Quinua", hydric deficit, hydric stress, DHL_{50}, PEG.

Introducción

La sequía y el déficit hídrico son factores ambientales que disminuyen el crecimiento celular, fotosíntesis y productividad de los cultivos (Levitt, 1980). El cultivo de especies vegetales de interés agrícola en el Perú, no escapa a este fenómeno climático que influye en la disponibilidad hídrica provocando restricciones de época y área de cultivo (Información Agraria, 2004).

La influencia negativa del déficit hídrico y la sequía sobre el crecimiento, desarrollo y productividad vegetal, así como, su distribución geográfica ha sido reportada por muchos investigadores (Fischer & Turner, 1978; Larcher, 2003; Bewley & Krochko, 1981; Ehleringer & Mooney, 1981). En climas áridos y semiáridos con influencia oceánica y de altura, con sequía prácticamente total (otoño-invierno) y esporádica (primavera-verano) representan un riesgo para muchos cultivos (Walter, 1977; Fischer & Turner, 1978; Brack, 1986).

No obstante, algunos vegetales han desarrollado la capacidad de resistir a la sequía sin sufrir daños permanentes (Henckel, 1964; Hsiao, 1973; Hasegawa *et al.*, 1984, Hall, 2001). Esta capacidad está asociada a cambios morfológicos y ciertos mecanismos fisiológicos, metabólicos y genéticos cuya naturaleza y extensión en cada caso es singular (Levitt, 1980; Turner, 1986; Parsons, 1987; Verslues *et al.*, 2014). Pero, estos mecanismos no están totalmente aclarados, dado el nivel de complejidad.

Una mayor resistencia aparentemente, estaría relacionada con mecanismos de tolerancia, como es la acumulación específica de metabolitos como carbohidratos, aminoácidos libres, glicina-betaina; algunos lípidos constituyentes de biomembranas y polipéptidos no enzimáticos (Levitt, 1980; Ackerson & Herbert, 1981; Cloutier, 1983; Corcuera *et al.*, 1989; Zuñiga *et al.*, 1990; Belhassen, 1996). Estos compuestos propenderían a evitar la alteración de la permeabilidad de las biomembranas causada por la deshidratación de la célula al ocurrir una baja presión de vapor de agua extracelular y la concomitante acumulación de productos tóxicos, tales como iones, ácidos orgánicos, radicales oxidantes u otros (Mano, 2002). Por lo tanto, determinados metabolitos cumplen el rol de proteger la integridad física y funcional de las membranas biológicas (Quinn, 1985; Bray, 1993; Bohnert *et al.*, 1995).

Actualmente, se conoce que la capacidad de incrementar la resistencia ante la aplicación de estímulos graduales de baja disponibilidad de agua (fortalecimiento), puede asociarse con el incremento de los compuestos mencionados y con cambios morfológicos en la raíz, tallo y hojas (Zuñiga *et al.*, 1990; Bray, 1993; Bohnert *et al.*, 1995).

La acumulación de carbohidratos, en plantas leñosas y herbáceas como en algunas variedades de "algodón", "avena", "cebada" y "sorgo", se asocian con la resistencia a la sequía. Pontis (1989) destaca la importancia de los fructanos en el desarrollo de la resistencia a la sequía en vegetales. Sin embargo, existen numerosas excepciones al respecto. También se ha informado que, la resistencia a la sequía se asocia en algunos casos con el incremento de aminoácidos, como prolina, arginina, alanina y/o valina (Hsiao, 1973; Hanson, 1980; Parsons, 1987; Hare & Cress, 1997).

Además, evidencias sobre la importancia de la síntesis proteica en el proceso de fortalecimiento ha sido reportada por varios autores (Cloutier, 1983; David Ho & Sachs, 1989). En relación a los lípidos, algunos trabajos señalan que los contenidos foliares de fosfolípidos y/o galactolípidos se asocian directamente con los cambios estacionales y de estrés hídrico (Zuñiga *et al.*, 1990).

Los cambios morfológicos como, el cierre estomático, disminución del área foliar, movimientos de las hojas, desprendimiento de las hojas y la pubescencia, disminuirían la fotosíntesis y, por ende la productividad vegetal, no obstante, se ha sugerido que otros mecanismos, tales como la resistencia cuticular, resistencia del mesófilo de la hoja,

densidad de la raíz, el ajuste osmótico, el aumento de la elasticidad y la disminución del tamaño de las células no reducirían necesariamente el proceso productivo, siendo por tanto, parámetros que ha tenerse en cuenta para el estudio de la resistencia al estrés hídrico (Turner, 1979; Bradford & Hsiao, 1981; Turner, 1986; Jenks & Hasegawa, 2014).

La "quinua" *C. quinoa* Willd., es uno de los cultivos marginales más importantes de los andes del Perú y Sudamérica, por su elevado valor biológico. A pesar de que esta especie posee una amplia adaptación a diferentes tipos de suelos y condiciones climáticas, durante la estación pluvial (primavera-verano), pueden ser afectados por la sequía, que según el grado de intensidad y magnitud, llegan a lesionar ó alterar la fisiología del follaje de la planta disminuyendo su rendimiento, evento que ha sido observado principalmente en la Región Arequipa, Puno, Cuzco, y con mayor intensidad durante el fenómeno El Niño, produciendo cuantiosas pérdidas a los agricultores andinos (Rea *et al.*, 1979; Tapia, 1979).

El germoplasma peruano de "quinua" poseedor de cultivares de diferente procedencia geográfica ha sido escasamente estudiado respecto al grado resistencia a la sequía y/o déficit hídrico, así como los mecanismos involucrados con su capacidad de aclimatación (Tapia, 1979; Tapia *et al.*, 2014).

Se hipotetiza que cultivares resistentes a la sequía, deberían responder al tratamiento de déficit hídrico, con puntos de marchitez permanente menores, cambios morfológicos e incremento de la tolerancia al déficit hídrico, concordante con el aumento de concentración de metabolitos y cambio de composición de macromoléculas.

Para resolver esta hipótesis planteamos como:

Objetivo general: Evaluar la respuesta al déficit hídrico en cultivares del germoplasma peruano de "quinua" *Chenopodium quinoa* Willd.; y como:

Objetivos específicos:

a. Determinar el punto de marchitez permanente (PMP) en 14 cultivares de "quinua".

b. Determinar el grado de resistencia al déficit hídrico (DHL_{50}) en cultivares resistentes y sensibles de "quinua".

c. Determinar la concentración de metabolitos (carbohidratos solubles totales, prolina y betaína) y proteínas solubles en cultivares contrastantes (sensible y resistente).

d. Relacionar el grado de tolerancia al estrés hídrico con los cambios en la concentración de solutos compatibles y proteínas solubles.

Material y métodos

Material biológico

Se trabajó con semillas de 15 cultivares de "quinua" (Roja Coporaque, Kankolla, Kamire, Testigo amarillo, Kamakani I, Kamakani II, Cheweca, Chucapaca, Selección Puno, Amarillo Marangani, Real Bolivia, Blanca de Junin, V13 y Blanca de Juli), proporcionadas por el banco de germoplasma del Instituto Nacional de Investigación Agraria y Agroindustrial (INIAA), con sede Puno.

Condiciones de crecimiento

Las semillas de los cultivares en estudio se sembraron en macetas (12 x 9 x 12 cm) conteniendo suelo orgánico mezclado con arena (1:1). Las plántulas obtenidas se regaron con solución nutritiva Fertiplant

(NPK 30:10:10) a los 15 y 30 días de germinadas, hasta que tuvieran 8 hojas verdaderas.

Punto de marchitez permanente

El punto de marchitez permanente (PMP) se determinó según la metodología descrita por López-Ritas y López-Melida (1985). Una vez que las plántulas alcanzaron el estado fenológico de 8 hojas verdaderas, los cultivares fueron dejados de regar por aproximadamente 6 días. Cuando los cultivares mostraron signos de marchitez, fueron llevadas a una cámara saturada de humedad por 18 horas en completa oscuridad, para observar su recuperación. Las que se recuperaron en ese ambiente húmedo fueron sacadas nuevamente al campo, mientras que las que no se recuperaron fueron cosechadas y determinándose el peso seco del suelo en estufa a 110ºC. A continuación se calculó el PMP aplicando la siguiente fórmula:

$$PMP = \frac{\text{A-B (peso del agua en la raíz x C)}}{\text{B-D (peso de la raíz seca x C)}} \text{ x } 100$$

A= peso bruto de la maceta más el suelo, después de eliminar la parte aérea de la planta

B= peso de la maceta mas el suelo secado a 110ºC

C= peso de la parte aérea de la planta

D= peso neto de la maceta

Tolerancia al déficit hídrico (DHL_{50})

Se prepararon dos grupos de 5 macetas, correspondientes a cincos cultivares Blanca de Juli, Roja Coporaque, Kankolla, Chucapaca y Kamire, resistentes y sensibles al estrés hídrico, referido a su PMP. Se siguió la metodología descrita por Sullivan & Ross (1977), en la cual se utiliza discos de hojas, estas son lavadas con agua desionizada y sumergidas (5 discos de hojas por frasco) en diferentes concentraciones de PEG (PM 8000) por 24 horas a una temperatura de 10°C. Después, se elimina la solución que contiene el PEG y se lavan los discos con agua desionizada incubándose a 10°C por 24 horas. Transcurrido este tiempo se incuba en un baño con agua a 25°C y se mide la conductividad de la solución. Después de las lecturas, las muestras fueron calentadas en un baño de agua hirviente (92°C) durante una hora, para matar el tejido de las hojas. Se deja enfriar hasta 25°C para posteriormente realizar una segunda lectura de la conductividad de la muestra. El porcentaje de daño celular por déficit hídrico fue calculado aplicando la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de daño} = 1 \frac{1-(T1/T2)}{1-(C1/C2)} \text{ x } 100$$

C1 = Conductividad inicial del control

C2= Conductividad final del control

T1= Conductividad inicial de los tratamientos

T2= Conductividad final de los tratamientos

Finalmente, con los valores obtenidos se construyó una curva relacionando los valores promedio de daño celular (en porcentaje) versus la concentración de PEG. El grado de tolerancia al déficit hídrico se expresó en base al 50% de daño celular (DHL_{50}) a una determinada concentración de PEG, asociado a su potencial hídrico (Burulin, 1983).

Análisis químicos

Los carbohidratos solubles totales se extrajeron con agua 80º C y determinaron por el método del fenol-sulfúrico,

midiendo la absorvancia a 485 nm en espectrofotómetro, utilizando glucosa como estándar (Dubois *et al.*, 1956). La prolina se determinó por el método de Bates *et al.* (1973), que consiste en extraer la prolina utilizando ácido sulfo-salicílico 3% (p/v), el extracto se trató con solución reactiva fosfo-acética de ninhidrina, los que fueron colocados en tubos cerrados e incubados en baño María (100º C), se dejó enfriar, y añadió toluol, se agitó en un Vortex, y se dejó separar las fases, luego se extrajo la solución coloreada y se leyó su absorvancia en un espectrofotómetro a 546 nm. Para la determinación de betaína, se siguió la metodología descrita por Grieve & Gratan (1983), se extrajo la betaína con ácido sulfúrico 1N y se precipitó como peryodatos, luego fue resuspendido con dicloroetano, en donde se midió la absorvancia en espectrofotómetro a 365 nm. Las proteínas solubles se extrajeron homogenizando el material vegetal con una solución buffer fosfato-Na 0.5 M (pH7.0) y centrifugado a 5,000 rpm por 10 min. El sobrenadante con las proteínas, fue separado y diluido en agua destilada (1:1, v/v). En él se cuantificó las proteínas solubles utilizando solución alcohólica de azul brillante de Coomassie y H_3PO_4 (85%), y midiendo la absorvancia a 595 nm con un espectrofotómetro (Bradford, 1976). Como estándar se utilizó albúmina de suero bovino (BSA, Merck).

Diseño experimental

La selección de los cultivares sensibles y resistentes se realizó mediante una distribución completamente al azar, en donde cada una de las macetas conteniendo una planta representa una unidad experimental, se determinó el contenido hídrico del suelo, cuando la planta fue incapaz de recuperarse en una cámara con una humedad del 100%. Se realizó un análisis de varianza ($p<0.05$) y el test de significancia de Tukey ($p<0.05$). En la medida de la tolerancia al déficit hídrico aplicó una distribución completamente al azar, donde cada tubo de prueba que contiene el material investigado representa una unidad experimental. Los datos fueron sometidos a un análisis de varianza y la diferencia de medias se estableció mediante el test de significancia de Tukey (Reyes, 1980). En el análisis de las diferencias existentes entre los metabolitos se aplicó un diseño de bloques al azar con arreglo factorial 2 x 2, cada experimento se realizó con cinco repeticiones para cada determinación (carbohidratos, prolina, betaína y proteína soluble. La diferencia estadística entre los promedios de ambos cultivares se estableció mediante un análisis de varianza ($p<0.05$) y el test de significancia de Tukey (Reyes, 1978).

Resultados

Determinación del Punto de Marchitez Permanente

Se encontró distinto grado de respuesta al déficit hídrico (Tabla 1). Los PMP muestran diferencias significativas ($p<0.05$) entre los cultivares, siendo el cultivar Blanca de Juli el más resistente (10.23%) y Kamire el más sensible (22.21%) al marchitamiento de las hojas, mientras que otros cultivares fueron medianamente resistentes (Amarillo marangani, Kamacani I, V13, Roja Coporaque, Kankolla, Selección Puno, Blanca de Junin, Kamacani II y Testigo amarillo) y medianamente sensibles (Real Bolivia, Chucapaca y Cheweca).

Tolerancia al déficit hídrico

La medida de la tolerancia al déficit hídrico empleando PEG (P.M. 8,000) en algunos cultivares contrastantes seleccionados, muestra una respuesta

significativa ($p<0.05$), semejante a lo informado en la determinación del PMP. En la Tabla 2 apreciamos que el cultivar Blanca de Juli muestra el mayor valor de resistencia foliar al déficit hídrico (DHL_{50}=110.58) y menor el cultivar Kamire (DHL_{50}=28.57), el cultivar Roja Coporaque fue medianamente resistente y el cultivar Chucapaca medianamente sensible, el cultivar Kankolla mostró una respuesta intermedia. Esta técnica demuestra poseer una mayor sensibilidad en la evaluación de la resistencia a la desecación, respecto al método que mide el PMP.

TABLA 1. Punto de marchitez permanente (P.M.P.), en 14 cultivares de "quinua" (*Chenopodium quinoa* Willd.). Los valores son promedios porcentuales de tres observaciones.

	CULTIVAR	GRADO	P.M.P.
1.	Blanca de Juli	R	10.23c
2.	Amarillo Marangani	MR	11.23bc
3.	Kamacani I	MR	11.47bc
4.	V13	MR	12.24bc
5.	Roja Coporaque	MR	12.39bc
6.	Kancolla	MR	12.93bc
7.	Selección Puno	MR	12.98bc
8.	Blanca de Junin	MR	13.10bc
9.	Kamacani II	MR	13.36bc
10.	Testigo amarillo	MR	13.21bc
11.	Real Bolivia	MS	13.56b
12.	Chucapaca	MS	13.84b
13.	Cheweca	MS	14.46b
14.	Kamire	S	22.21a

Letras iguales indican que no existen diferencias estadísticamente significativas, según test de Tukey. Valor de significancia de F P<0,05. D.M.S.= 0,49;V. = 4.25%
R= resistente; S= sensible; MR= medianamente resistente, MS= medianamente sensible.

Respuesta metabólica al déficit hídrico

La Tabla 3, muestra la respuesta metabólica de dos cultivares de resistencia contrastante. Se aprecia diferencias significativas ($p<0.05$) de concentración de carbohidratos en el cultivar Blanca de Juli (52.43 mg/gps), respecto al cultivar Kamire (42.08 mg/gps), sin tratamiento (PEG); pero al aplicarles tratamiento de déficit hídrico con PEG (PM 8000), el cultivar resistente (Blanca de Juli) incrementó significativamente ($p<0.05$) su concentración de carbohidratos a 60.59 mg/gps, mientras el menor incremento se produjo en el cultivar sensible Kamire (47.67 mg/gps). Asimismo, la acumulación

TABLA 2. Tolerancia al déficit hídrico (DHL_{50}) en 5 cultivares contrastantes de "quinua" (*Chenopodium quinoa* Willd.). Los valores son promedios de cinco repeticiones.

CULTIVAR	DHL_{50}	ψ (MPa)	Clasificación
Blanca de Juli	110.58a	-14.41	Resistente
Roja Coporaque	60.49b	-4-42	Med. resistente
Kankolla	59.79bc	-4.32	Intermedia
Chucapaca	52.90c	-3.41	Med. sensible
Kamire	28.57d	-1.05	Sensible

Letras iguales indican que no existe diferencia significativa entre los cultivares, según la prueba de Tukey, valor de significancia de f ($p<0.05$)

(DHL_{50})= Grado de tolerancia al déficit hídrico en base al 50% de daño celular
ψw = Potencial hídrico teórico (MPa), según la fórmula de Michael y Kaufman (Burulin, 1983)

del aminoácido prolina por el tratamiento de déficit hídrico, fue mayor en el cultivar resistente Blanca de Juli (44.79 mg/gps), respecto al control (40.20 mg/gps); mientras que el cultivar sensible Kamire la concentración de prolina disminuyó de 45.29 mg/gps a 41.28 mg/gps, respecto al control sin tratamiento.

La acumulación de betaina, presentó diferencia significativa ($p<0,05$) entre cultivares, y por el tratamiento de deficit hídrico el contenido de betaina fue mayor en el cultivar resistente Blanca de Juli (145.60 mg/gps), respecto al control (101.85 mg/gps) sin tratamiento, mientras el cultivar sensible Kamire no mostró diferencias significativas ($p<0.05$) por el tratamiento con PEG.

No hay diferencias significativas entre los cultivares respecto al contenido de proteína soluble, pero sí entre los tratamientos de déficit hídrico, el cultivar resistente incrementó significativamente ($p<0.05$) su concentración de 62.51mg/gps a 74.54 mg/gps, mientras que el cultivar sensible Kamire mostró un mayor incremento en la concentración de 55.09mg/gps a 68.92 mg/gps.

Discusión

El Perú por su geografía y clima característicos, frecuentemente es impactado por la sequía, ocasionando importantes pérdidas para el agricultor y la industria. Este fenómeno generalmente se localiza con mayor gravedad en la sierra peruana, afectando la producción de "papa", "maíz", "trigo", "cebada", "habas" y "quinua" y/o disminuyendo el área de cultivo (Tapia, 1979; Información Agraria, 2004).

De los catorce cultivares de "quinua" investigados, Blanca de Juli resultó ser el más resistente a la sequía demostrando gran capacidad de resistencia a la deshidratación al ser expuestos a déficit hídrico, mientras que, el cultivar Kamire, resultó ser más sensible, por su menor capacidad de resistir la deshidratación. Utilizando dos metodologías distintas que parten de la medida del contenido hídrico en el suelo (PMP), cuando ocurre la marchitez de

TABLA 2. Contenido de carbohidratos, prolina, betaina y proteína soluble en dos cultivares contrastantes de "quinua" (*Chenopodium quinoa* Willd.). Los valores son promedios de cinco repeticiones.

	CULTIVAR			
	Blanca de Juli		Kamire	
TRATAMIENTO PEG (%p/v)	0	10	0	10
Carbohidratos	52.43 ab	60.59a	42.08c	47.67c
Prolina	40.20a	44.79a	45.29a	41.28a
Betaina	101.85b	145.60a	131.89a	152.42a
Proteína soluble	62.51bc	74.54a	55.09c	68.92ab

Letras iguales indican que no existe diferencia significativa entre los cultivares, según la prueba de t de comparación, valor de significancia de f($p<0.05$)

(DHL_{50})= Grado de tolerancia al déficit hídrico en base al 50% de daño celular

Ψw = Potencial hídrico teórico (MPa), según la fórmula de Michael y Kaufman (Burulin, 1983)

la planta entera en un suelo con déficit hídrico, y la medida de la resistencia hídrica foliar usando secciones de hojas tratadas con soluciones de PEG (PM 8000) que simulan el déficit hídrico, mostraron respuestas similares.

La utilización del PMP para seleccionar cultivares resistentes y sensibles a la sequía, ha sido informado y utilizado por varios autores (Sivori, *et al.*, 1980; López-Ritas & López-Melida, 1985). Los resultados muestran diferencias significativas ($p<0.05$) en el PMP de los cultivares en estudio, siendo el menor 10.23 por ciento (Blanca de Juli) y el mayor 22,21 por ciento (Kamire) respuestas que permitió agruparlos como resistente al cultivar Blanca de Juli y sensible al cultivar Kamire, y los otros cultivares como intermedios. No obstante, esta clasificación presenta limitaciones particulares del suelo, relacionados con la textura del suelo, como ha sido informado por Mazliak (1976), donde en suelos franco arenosos el PMP para el "trigo", "tomate" y "guisante" es de 6,5, 6,9 y 6,9 por ciento, respectivamente mientras que en suelos francos el PMP para los cultivares arriba mencionados es de 9,9, 11,7 y 12,4 por ciento, variando de un suelo a otro limitando su repetitividad. También influye el clima (temperatura, viento, humedad relativa, radiación) modificando la estructura del suelo, factores que limitarían su certeza dada la dificultad que presenta el control de los mismos. Es por esto, que esta metodología necesita ser contrastada con otras pruebas como la medida del grado de deshidratación foliar que hace uso de PEG (PM 8,000), (Sivori, *et al.*, 1980).

La medida de la tolerancia a la

deshidratación que hace uso de varias concentraciones de PEG (PM 8000), es un método más preciso y menos dificultoso que el empleado anteriormente. La contrastación de nuestros resultados con los valores de PMP y medida de la tolerancia a la deshidratación en los cultivares Roja Coporaque, Kankolla, Chucapaca y Kamire (ver Tabla 1 y Tabla 2), permite corroborar nuestros resultados y validar lo encontrado en el PMP (Sullivan & Ross, 1977), coincidiendo con la selección de dos cultivares contrastantes Kamire y Blanca de Juli (Barriga,1998).

La respuesta metabólica de los cultivares contrastantes, muestran el ajuste osmótico ligeramente mayor en el cultivar resistente (Blanca de Juli), al incrementar el contenido de carbohidratos en un 15% respecto al 13 % de incremento que mostró el cultivar sensible Kamire. El grado de ajuste osmótico ha demostrado ser predictor del grado de resistencia a la sequía en muchas especies vegetales (Turner & Jones, 1980; Morgan,1977; Belhassen, 1996). Al respecto, el incremento de la concentración de carbohidratos, nos estaría indicando una mayor capacidad para realizar un ajuste osmótico en el cultivar resistente, respecto al sensible, lo cual se debería a una fotosíntesis más eficiente, ó puede atribuirse también a procesos de degradación, por disminución de la concentración de almidones (Fitter & Hay, 2002). Estos cambios serían los primeros indicios de un ajuste osmótico mediado por el metabolismo fotosintético frente a un estrés hídrico (Verslues, *et al*., 2014).

El preciso rol que cumpliría la acumulación de prolina en plantas expuestas a déficit hídrico aún no está bien comprendido, pues su acumulación en varias especies de plantas expuestas a déficit hídrico ha implicado una mayor resistencia a este factor (Bray *et al*., 1993). Sin embargo, no se ha encontrado diferencias significativas entre los cultivares y tratamientos de las especies en estudio (Díaz, 1999). En contraposición a Singh *et al*. (1973) y Hanson (1980) encontraron en cultivares de "cebada", diferencias genotípicas, en la acumulación de este aminoácido, como es el caso del cultivar Blanca de Juli que mostró un incremento del 11% respecto al control, pero, en el cultivar Kamire, éste disminuyó en un 10% respecto al control. Al parecer, como producto del déficit hídrico, la disminución de prolina se produciría por una mayor oxidación como ha sido observado en algunos cereales (Boggess & Steward, 1976). Sin embargo, en concordancia con Ibarra-Caballero *et al*. (1988), el aumento en los contenidos de prolina no constituye un índice seguro de resistencia a la sequía, sino mas bien representa un indicador del nivel de estrés al que la planta se expone. Para otros investigadores, los contenidos basales de prolina, más que su acumulación, constituirían un buen indicador de resistencia relacionado con la fotofosforilación oxidativa respecto al mantenimiento de la razón NADP+/ NADPH2 (Naidu *et al*., 1992; Verslues *et al*., 2014).

EL rol del metabolito glicina-betaina en el ajuste osmótico está bastante documentada, en nuestro trabajo encontramos que las plantas control mostraron diferencias significativas ($p<0.05$) entre cultivares, siendo mayor en el cultivar sensible Kamire (131.89 mg/gps) y menor en el cultivar Blanca de Juli (101.85 mg/gps), sin embargo, por el tratamiento de déficit hídrico con PEG (PM 8000), el cultivar Blanca de Juli incrementó su concentración (43%, respecto al control) en forma significativa ($p<0.05$), en cambio el cultivar

Kamire sólo incrementó ligeramente(15%, respecto al control), sin ser este significativo (ver Tabla 3). Esta incapacidad de respuesta podría limitar la capacidad de ajuste osmótico en el cultivar más sensible, como ha sido informado en cultivares de "trigo" resistentes que acumulan glicinabetaina, existiendo evidencias que su acumulación es consecuencia de vías metabólicas con carácter adaptativo, más que de un producto final del metabolismo (Bray, 1993).

La presencia de los metabolitos analizados, como respuesta a un déficit hídrico, se ha asociado además del ajuste osmótico, con la protección de membranas y proteínas solubles (Bohnert *et al.*, 1995). El incremento de proteína soluble en el cultivar sensible fue mayor (25% respecto al control) y menor en el resistente (19% respecto al control). Hall (1999) encontró en callos de "trigo", un aumento en la síntesis de proteínas que se relacionaba con un efectivo ajuste osmótico. El aumento de proteínas en nuestro caso, puede deberse a la aparición de nuevas proteínas y/o a la sobreexpresión de las proteínas ya presentes (Ho & Sachs, 1989; Verslues *et al.*, 2014), como fue encontrado en genotipos de "avena" donde se detectó la aparición de nuevas proteínas (Maldonado, 1992). Las respuestas genotípicas en cuanto a la aparición de proteínas, han sido encontradas también en otras plantas y, ante otros tipos de estrés (Huang, 2006), como fue informado en cultivares contrastantes de "cebada" sometidos a un estrés salino (Bray, 1993) y en plantas expuestas a estrés de baja temperatura (Rosas *et al.*, 1986). Estas proteínas estarían cumpliendo un rol protector contra la deshidratación a nivel de la síntesis de proteínas enzimáticas antioxidantes (CAT, POX, SOD), Kinasas, fosfatasas y proteínas estructurales del plasmalema y citoesqueleto (Bohnert *et al.*, 1995; Huang, 2006; Verslues *et al.*, 2014).

El presente trabajo permite concluir, la confiabilidad de la utilización del método del PMP, comparado con la medida de la tolerancia a la desecación utilizando PEG (PM 8000), en la selección de genotipos resistentes al estrés hídrico. Por otra parte, la mayor resistencia al déficit hídrico en los cultivares estudiados dependería en parte de la capacidad de acumular metabolitos como azúcares, prolina, glicina betaína y proteínas como fue determinado en el cultivar resistente Blanca de Juli, el cual podría contribuir a mejorar la capacidad de resistencia de cultivares sensibles a la sequía empleando técnicas de biotecnología, contribuyendo a ampliar la superficie de cultivo de éstos cultivares en zonas áridas.

Literatura citada

Ackerson, R. C. & R. R. Herbert. 1981. Osmoregulation in cotton in response to water stress. 1. Alteration in photosynthesis, leaf conductance, traslocation, and ultrastructural. Plant Physiol. 67: 484-488.

Bates, L.S.; R. P. Waldren & I. D. Teare. 1973. Rapid determination of free proline for water stress estudies. Plant and Soil 39:205-207.

Barriga, M. 1998. Respuesta al déficit hídrico en dos cultivares contrastantes de *Chenopodium quinoa* Willd. Tesis de Biólogo. UNSA . Arequipa-Perú.

Belhassen, E. 1996. Drought tolerance in higher plants: genetical, physiological and molecular biological analysis, Plant Growth Regulation 20:79-178.

Belhassen, E. & J. E. Krochko. 1981. Desiccation-Tolerance. In Enciclopedia of Plant Physiology vol 10. Springer-Verlag, Berlin, New York. pp. 325-373.

Bohnert, H. J.; D. E. Nelson & R. G. Jensen. 1995.

Adaptations to environmental stresses. Plant Cell 7, 1099-1111.

Boggess, S. F. & C. R. Steward. 1976. Contribution of arginine to proline accumulation in water stressed barley leaves. Plant Physiol. 58:796-797.

Brack, A. 1986. Ecología de un país complejo. En Gran Geografía del Perú. Manfer-Juan Mejía Baca. España. pp. 177-319.

Bradford, M. M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal. Biochem. 72: 248-254.

Bradford, K. J. & T. C. Hsiao. 1981. Physiological response to moderate water stress. In Enciclopedia of Plant Physiology vol 9. Springer-Verlag, Berlin, New York. pp. 264-323.

Bray, E. A. 1993. Molecular responses to water deficit. Plant Physiol. 103, 1035-1040.

Burulin, M. 1983. Evaluation of the Water Potencials of solution of polyethylene glycol 8000 both in the absence y presence of the other solutes. Plant Physiology. 70:66-70.

Cloutier, Y. 1983. Changes in the electrophoretic patterns of the soluble proteins of winter wheat and rye following cold acclimation and desiccation stress. Plant Physiol. 71:400-403.

Corcuera, L.; M. Hintz & E. Pahlich. 1989. Proline metabolismin *Solanum tuberosum* cell suspension cultures under water stress. J. Plant Physiol. 134: 290-293.

David ho, T. H. & M. M. Sachs. 1989. Stress-induced proteins: Characerization and the regulation of their synthesis. In The Biochemistry of Plants vol 15. Academic Press. pp. 347-363.

Diaz, Y. 1999. Respuesta fisiológica al déficit hídrico en siete cultivares de *Chenopodium quinoa* Wild. “quinua”. Tesis de Biólogo. UNSA. Arequipa-Perú.

Dubois, M.; K. A. Gilles; J. M. Hamilton; P. A. Rebers & R. Smith. 1956. Anal. Chem. 28:350-356.

Ehleringer, J. & H. A. Mooney. 1981. Productivity of Desert and mediterranean-climate plants. In Enciclopedia of Plant Physiology, Vol. 7. Springer-Verlag, Berlin, New York. pp.205-226.

Fischer, R & N. Turner. 1978. Plant productivity in the treatment of the sigmoid Response Curve. Cambridge University Press.

Fitter, A. H. & R. K. Hay. 2002. Environmental Physiology of Plants. Academic Press. USA.

Grieve, C. & S. Gratan. 1983. Rapid assay for determination of water soluble quaternary ammonium compounds. Plant Physiol. 70: 303-307.

Hall, R. D. 1999. Plant cell culture protocols. Humana Press. USA.

Hall, A. E. 2001. Crop responses to environment. CRC. USA.

Hanson, A. 1980. Interpreting the metabolic responces of plants to water stress. HortScience 15 (5): 623-629.

Hare, P. D. & W. A. Cress. 1997. Metabolic implications of stress-induced prolineaccumulation in plants. Plant Growth Regulation 21: 79-102.

Hasegawa, P.; R. Bressan; S. Handa & A. Handa. 1984. HortScience 19 (3): 371-376.

Henckel, P. A. 1964. Physiology of Plants Under Droght. Institute of Plant Physiology. USSR. Academic of Sciences. Moscov. Ann. Rev. Plant Physiology .

Hsiao, T. C. 1973. Plant responses to water stress. Ann. Rev. Plant Physiol. 24: 519-570.

Huang, B. 2006. Plant-Environment Interactions. CRC. Taylor & Francis, USA.

Ibarra-Caballero, J.; C. Villanueva-Verdugo; J. Molina-Galan & E. Sanchez-De Jimenez. 1988. Proline accuymulation as a symtom of drought stress in maize: a tissue differentiation requerirement. J. Exp. Bot. 39: 889-897.

Informacion Agraria. 2004. 2004. Año seco. L & L Editores. No 10 abril 2004. Lima.

Jenks, M. A. & P. M. Hasegawa. 2014. Plant abiotic stress, Wiley-Blackwell, USA, 318 p.

Larcher, W. 2003. Water relations. In: Physiological Plant Ecology. Omega, Springer. pp. 231-296.

Levitt, J. 1980. Water Stress. In: Responses of plants to enviromental stresses, Vol II Academic Press, Inc. New York, London, Toronto, Sydney, San Francisco. pp. 25-229.

Lopez-Ritas, J. & J. Lopez-Melida. 1985. Análisis físico de los suelos. En Diagnóstico de suelos y plantas. Mundi-Prensa. Madrid. pp. 151-181.

Mano, J. 2002. Early events in environmental stresses in plants: Induction mechanisms of oxidative stress. In: Oxidative stress in plants, Ed. Inzé, D. y M. Van Montagu, Taylor y Francis, London and New York, pp. 217-245.

Maldonado, C. 1992. Respuestas fisiológicas al déficit hídrico en dos genotipos de *Avena sativa* L. con resistencia contrastante a la sequía. Tesis de Magíster, Universidad Austral de Chile, Valdivia-Chile.

Mazliak, P. 1976. Fisiología Vegetal- Ed. Omega S.A. Barcelona 239-260.

Morgan, J. M.1977. Differences in osmoregulation between wheat genotypes. Nature 270:234-235.

Naidu, B. P.; D. Aspinall & L. G. Paleg. 1992. Variability in proline-accumulatingability of barley (*Hordeum vulgare* L.) cultivars induced by vapor pressure deficit. Plant Physiol. 98: 716-722.

Parsons. L. R. 1987. Respuestas de la planta a la deficiencia de agua. En mejoramiento de plantas en ambientes poco favorables. Limusa. México. pp. 211-229.

Pontis, H. G. 1989. Fructans and cold stress, J. Plant Physiol. 134:148-150.

Quinn, P. J.1985. A lipid phase separation model of low temperature damage to biological membranes. Cryobiology 22: 128-148.

Rea, J.; M. Tapia & A. Mujica. 1979. Prácticas agronómicas . En: la “quinua” y la “Kañiwa”, CIID IICA. Bogotá .pp 83-120.

Reyes, C. P. 1978. Diseño de experimentos aplicados. Ed. Trillas, México. 348 p.

Rosas, A.; M. Alberdi; M. Delseny & L. Meza-Basso. 1986. A cryoprotective polypeptide isolated from *Nothofagus dombeyi* seedlings. Phytochemitry 25: 2497-2500.

Singh, T.; L. Paleg & D. Aspinall. 1973. Stress metabolism. III. Variations in response to water deficit in the barley plant. Aust. J. Biol. Sci. 26: 65-76.

Sivori, E.; E. Montaldi & O. Caso. 1980. Fisiología Vegetal . Hemisferio Sur. Argentina.

Sullivan, C. Y. & W. M. Ross. 1977. Selecting for Drougth and Heat resistense in grain *Sorghum* In: Stress Physiology in Crop Plants, John Wiley & Sons, New York. pp 264-281

Tapia, M. 1979. La “quinua” y la “kañiwa”. CIID y IICA. Bogotá . 227 p.

Tapia, M.; A. Canahua & S. Ignacio. 2014. Razas de “quinuas” del Perú, de los andes al mundo. ANPE-Perú, CONCYTEC, Lima, Perú. 173 p.

Turner, N. C.1979. Drought resistance and adaption to water deficits in crop plants. In Stress physiology in Crop Plants. H. Mussell y R. C. Staples, Wiley Interscience, Nueva York, pp. 343-372.

Turner, N. C. & M. Jones. 1980. Turgor maintennace by osmotic adjusment: a review and evaluation. En : Adaptation of Plants to Water an High Temperature Stress. Ed. N. Turner y P. Kramer

Turner, N. C. 1986. Crop Water Deficits: a decade of progress. Advances in Agronomy Vol 39:1-51.

Verslues, P.; G. B. Bhaskara; R. Kesari & M. Kumar. 2014. Drought tolerance mechanisms and their molecular basis. In: Plant Abiotic stress, Ed. Jenks, M. y P. M. Hasegawa, Wiley Blackwell, USA, pp. 15-46.

Walter, H. 1977. Vegetación de la zona subtropical árida (desiertos). En: Zonas de vegetación y clima. Omega, Barcelona. pp. 81-109.

Zuñiga, G.; J. Fernandez; R. Cristi; M. Alberdi & L. Corcuera. 1990. Lipid changes in barley seedlings subjected to wáter and cold stress. Phytochemistry 29: 3087-3090.